

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

010687759

WPI Acc No: 1996-184715/199619

XRAM Acc No: C96-058497

Therapeutic against cytomegalovirus anti-genaemia - contg anti cytomegalovirus human monoclonal antibody recognising envelope glyco-protein, used for treating interstitial pneumonia, etc.

Patent Assignee: TEIJIN LTD (TEIJ)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 8059509	A	19960305	JP 94192421	A	19940816	199619 B

Priority Applications (No Type Date): JP 94192421 A 19940816

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 8059509	A		6	A61K-039/42	

Abstract (Basic): JP 8059509 A

Therapeutic agents against cytomegalovirus (CMV) anti-genaemia contain an anti-CMV human monoclonal antibody recognising the envelope glycoprotein of CMV and neutralising CMV. Pref the glycoprotein is Glycoprotein B. Pref the antibody is IgG1, esp. ''legavyl mab (sic)''. Also claimed are therapeutic agents against infection by the virus contg the antibody.

The antibody is produced by a mouse-human hybridoma formed by fusion of an antibody-producing cell sensitiser with CMV or its glycoprotein with the myeloma cell of mice in vitro in the presence of mitogen.

USE/ADVANTAGE - The infection is interstitial pneumonia, CMV hepatitis, or CMV nephritis. The agents control infection and are safe with few side effects.

In an example, a soln contg a human monoclonal antibody obtd by the method described in International Patent No 87-03602, 0.2 pt wt ''legavyl mab (sic)'', 2 pts wt amino acetic acid, 0.2 pts wt human serum albumin, 0.9 pts wt sodium chloride and 96.7 pts wt of distilled water was prepd and sterilised, poured in glass vials in an amt of 20 ml per vial under sterile conditions and freeze dried to obtain a prod of ''legavyl mab (sic)'' in an amt of 40 mg per vial.

Dwg.0/0

Title Terms: THERAPEUTIC; CYTOMEGALOVIRUS; ANTI; CONTAIN; ANTI; CYTOMEGALOVIRUS; HUMAN; MONOCLONAL; ANTIBODY; RECOGNISE; ENVELOPE; GLYCO; PROTEIN; TREAT; INTERSTITIAL; PNEUMONIA

Derwent Class: B04; D16

International Patent Class (Main): A61K-039/42

International Patent Class (Additional): A61K-039/395; C12P-021/08

File Segment: CPI

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-59509

(43) 公開日 平成8年(1996)3月5日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 39/42				
39/395	ADY S			
// C 1 2 P 21/08		9358-4B		

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願平6-192421	(71) 出願人	000003001 帝人株式会社 大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号
(22) 出願日	平成6年(1994)8月16日	(72) 発明者	正岡 徹 大阪府池田市畑1丁目7番23号
		(72) 発明者	藤永 茂樹 東京都千代田区内幸町2丁目1番1号 帝人株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 前田 純博

(54) 【発明の名称】 サイトメガロウイルス抗原血症治療剤およびサイトメガロウイルス感染症治療剤

(57) 【要約】

【目的】 副作用の少ないCMV抗原血症治療剤およびCMV感染症治療剤を提供すること

【構成】 CMVのエンベロープ糖蛋白を認識し、CMVを中和する抗CMVヒト型モノクローナル抗体、例えばレガビルマブを活性成分とする。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 サイトメガロウイルス（CMV）のエンベロープ糖蛋白を認識し、CMVを中和する抗CMVヒト型モノクローナル抗体を活性成分とするCMV抗原血症治療剤。

【請求項2】 CMVのエンベロープ糖蛋白がGlycoprotein Bである請求項1記載のCMV抗原血症治療剤。

【請求項3】 抗CMVヒト型モノクローナル抗体がIgG1抗体である請求項1または2記載のCMV抗原血症治療剤。

【請求項4】 抗CMVヒト型モノクローナル抗体がレガビルマブである請求項1～3のいずれか1項記載のCMV抗原血症治療剤。

【請求項5】 CMVのエンベロープ糖蛋白を認識し、CMVを中和する抗CMVヒト型モノクローナル抗体を活性成分とするCMV感染症治療剤。

【請求項6】 CMVのエンベロープ糖蛋白がGlycoprotein Bである請求項5記載のCMV感染症治療剤。

【請求項7】 抗CMVヒト型モノクローナル抗体がIgG1抗体である請求項5または6記載のCMV感染症治療剤。

【請求項8】 抗CMVヒト型モノクローナル抗体がレガビルマブである請求項5～7のいずれか1項記載のCMV感染症治療剤。

【請求項9】 CMV感染症がCMV間質性肺炎である請求項5～8のいずれか1項記載のCMV感染症治療剤。

【請求項10】 CMV感染症がCMV肝炎である請求項5～8のいずれか1項記載のCMV感染症治療剤。

【請求項11】 CMV感染症がCMV腎炎である請求項5～8のいずれか1項記載のCMV感染症治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はCMV抗原血症治療剤およびCMV感染症治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 サイトメガロウイルス（CMV）は、ヒトに常在的に感染しているウイルスで、種々の臓器に潜伏している。病原性は弱く、多くの場合不顕性感染であるが、免疫不全患者や重度の免疫抑制状態にある易感染性患者、特に骨髓移植患者や臓器移植患者、AIDS患者では間質性肺炎などの重篤な症状を引き起こすほか、肝炎、胃腸炎、腎炎などのCMV感染症を引き起こし、死亡に至る例も多い。

【0003】 なかでも、骨髓移植患者においては、免疫抑制剤投与に伴って、移植後5～6週間で患者の約15%が間質性肺炎を発症し、死亡率は80～90%にのぼるという報告がある。近年この間質性肺炎に対する治療法が開発され、その致死率を50%に減少させることができるようになってきているといわれるが、依然として

致死率の高い合併症であることに変わりはない。

【0004】 このため、CMV感染の初期段階、すなわちCMV感染症として知られる前記間質性肺炎等の発症前のCMV抗原血症患者に投与され、その発症を未然に防止できる治療剤およびCMV感染症治療剤の開発が待たれている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 従来、CMV感染症治療剤として、例えば、ガンシクロビルやフェグロブリン製剤が知られているが、化学療法剤である抗ウイルス核酸類縁体には、副作用による投与量の制限や投与方法、適応症の制限があり、フェグロブリン製剤では十分な抗体価が得られず、材料がヒトの血液であるため供給量に問題がある。また抗CMVヒトモノクローナル抗体が有効であることも知られている（例えば、国際公開WO87/03602号公報など）が、この抗体については、そのCMV感染程度との関係において、その有効な投与時期についての情報はなかった。

【0006】 そこで、本発明は、副作用が少なく、安全性に優れたCMV抗原血症治療剤、すなわち、CMV感染症の発症抑制効果を有するCMV抗原血症治療剤、および、同様な特性を有するCMV感染症治療剤を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】 すなわち、本発明は、サイトメガロウイルス（CMV）のエンベロープ糖蛋白を認識し、CMVを中和する抗CMVヒト型モノクローナル抗体を活性成分とするCMV抗原血症治療剤およびCMV感染症治療剤を提供するものである。

【0008】 CMV抗原血症とは、末梢白血球中よりCMV抗原が検出される状態であり、その診断法としては、E-13（登録商標）（パイオソフト：フランス）、Clonab-CMV（登録商標）（パイオテスト：ドイツ）による方法が知られている。CMV抗原血症は臨床症状に先行して出現し、BMT患者においては、出現後4週間以内の発症確率は65.2%で、CMV抗原血症でない患者の2週間以内の発症確率6%と比較するとその後の発症確率が極めて高く、CMV抗原血症は活動性のCMVの一つの証明であると考えられる。

【0009】 本発明の治療剤の活性成分である抗CMVヒト型モノクローナル抗体としてはCMVのエンベロープ糖蛋白により免疫感作したヒトの抗体産生細胞とマウスのミエローマ細胞を用いるハイブリドーマ法、またはEBウイルスを用いる形質転換法により得られるヒトモノクローナル抗体を用いることができる。ハイブリドーマ法によるヒトモノクローナル抗体としては、例えばin vitroでマイトジエンの存在下にCMVまたはそれ由来の糖蛋白で感作したヒトの抗体産生細胞と、マウスのミエローマ細胞とを融合させて得られるマウス-ヒトハイブリドーマおよび/またはそれに由来する細胞

株の産生する抗CMVヒトモノクローナル抗体を挙げる
ことができる。

【0010】このような抗CMVヒトモノクローナル抗体としては、分子量13万ダルトンおよび5.5万ダルトンのサブユニットの複合体よりなるCMVのエンベロープ糖蛋白B (Glycoprotein B) を認識するものが好ましい。

【0011】このような抗CMVヒトモノクローナル抗体として、前記国際公開明細書に記載されたハイブリドーマC23によって産生されるヒトモノクローナル抗体であるレガビルマブを挙げる
ことができる。このモノクローナル抗体は、CMV感染細胞と反応し、非感染細胞とはほとんど反応しない。また、他のヘルペス属ウイルスである単純ヘルペスウイルス、EBウイルス、水痘帯状疱疹ウイルスには反応せず、CMVに特異的である。

【0012】レガビルマブは、分子量16万ダルトンのIgG1抗体であり、CMV中和能力を有し、その中和能力は、CMVのプラーク形成を50%制御するのに必要な抗体量は、0.5μg/mlである。また、in vitroでの細胞間CMV感染拡大を抑制することから、CMV抗原血症の段階の患者に投与されると肺炎、胃腸炎、網膜炎、腎炎など、CMV感染症の発症を抑制
することができるものと推察され、したがって、このようなCMV感染症の予防薬として用いることができる。

【0013】また、レガビルマブはCMV感染症の治療剤としても有効である。CMV感染症としては、間質性肺炎、肺炎、胃腸炎、網膜炎、腎炎、脾炎、脳炎、汎血球減少症などが知られている。

【0014】本発明のCMV抗原血症治療剤またはCMV感染症治療剤は、注射剤として投与されることが好ましく、好ましくは点滴により静脈内投与用として用いられる。その投与量は、0.1~50mg/kg/週とすることが好ましく、通常、0.8~15mg/kg/週投与する。ただし、初回投与においては、若干多量に投与
することが望ましい。

【0015】注射剤は通常の組成および方法で製造することができ、組成物中にヒト血清アルブミンやアミノ酢酸のようなレガビルマブの安定化のための化合物を添加
することが好ましい。

【0016】

【発明の効果】本発明の治療剤は、CMV抗原血症患者に投与されることにより、その後のCMV感染拡大を抑え、骨髄移植後や臓器移植後等に頻発する間質性肺炎、肺炎、胃腸炎、腎炎、網膜炎、脾炎、脳炎などのCMV感染症の発症を抑制し、またそれらのCMV感染症の進行拡大を抑え、縮小、治癒をはかることができる。さらには、本治療剤は副作用の少ない、安全性に富んだ治療剤である。

【0017】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明する。

【0018】なお、実施例において用いた治療剤、投与量、投与方法、CMV抗原陽性細胞の検出、分類、CMV感染症発症有無の観察方法は下記のとおりである。

【0019】治療剤：TI-23

後述の実施例1において製造したレガビルマブを1パイアル中40mg含む凍結乾燥製剤を用い、添付の溶解用注射用蒸留水にて溶解し、15分以上かけて点滴静脈内投与した。

【0020】投与量および投与間隔

初回投与量200mg/日を24時間間隔で3回、維持投与量120mg/日を1週間間隔とした。

【0021】CMV抗原陽性細胞の検出、分類

Van der Bij らの方法 [Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood, Journal of Clinical Microbiology, 26(12), 2531-2535, 1988 参照] に従った。検査当日に採血し、末梢白血球を分離後アセトン固定し、CMVの前初期抗原を認識するモノクローナル抗体 (C10+C11) を反応させ、間接免疫ペルオキシダーゼ法により、光顕的に検討し、白血球5万個あたりに検出される核が染まった白血球の個数を陽性白血球数とし、Van der Bergらの方法 [Cytomegalovirus antigenemia as a useful marker of symptomatic cytomegalovirus infection after renal transplantation- a report of 130 consecutive patients, Transplantation 48(6), 991-995, 1989] に従い、CMV抗原血症を次のように定義し、分類した。

【0022】①強陽性：5万個の白血球中に10個以上のCMV抗原陽性白血球が認められるか、又は5個以上が連続して検出された例、

②弱陽性：CMV抗原陽性白血球が10個未満か、又は5個以上が連続して検出されなかった例、

③陰性：CMV抗原陽性白血球が検出されなかった例。

【0023】CMV感染症発症の有無の観察

CMV性間質性肺炎については、原則として、動脈血ガス分析、X線写真、症状（発熱、乾いた咳など）、CT、BALによるCMV分離、尿中CMV数測定等により総合的にCMV性間質性肺炎発症を判断した。また、CMV感染症については、南嶋らの示したCMV感染症判定規準 [南嶋洋一、臓器移植とサイトメガロウイルス、臨床と研究、69(7)、107-111、1992] を参考にし診断した。臨床症状を呈したもののなかで、CMV抗体価上昇、CMVの検出、ガンシクロビルへの反応性あるいは病理検査等の結果よりCMVが原因と確認できたものをCMV感染症（肺炎、肝炎、胃腸炎、腎炎、網膜炎、脾炎、汎血球減少症、発熱）とした。

【0024】【実施例1】国際公開第87/03602号明細書に記載された方法で得たヒトモノクローナル

抗体、レガビルマブ0.2重畳部、アミノ酢酸2重畳部、ヒト血清アルブミン0.2重畳部、塩化ナトリウム0.9重畳部、蒸留水96.7重畳部の組成の溶液を作成し、無菌濾過後、20mlずつ無菌的にガラスバイアルに分注し、凍結乾燥して、1バイアル当たり40mgのレガビルマブの凍結乾燥品を得た。

【0025】【実施例2】同種骨髄移植患者61名のうち、24名を12名ずつ、AおよびBの2群にわけ、両群とも、T1-23を点滴により静脈内投与した。A群は、骨髄移植前1週より骨髄移植後15週まで、T1-23を投与し、CMV抗原陽性白血球の出現（CMV抗原血症）あるいは間質性肺炎の発症が認められた場合は投与期間を延長した。具体的には、12名中、15週間以上9名、11週目まで投与1名、14週目まで投与2名であった。

【0026】一方、B群は、骨髄移植前1週より観察および検査を開始し、骨髄移植後15週まで継続し、観察期間中、CMV抗原陽性白血球あるいは間質性肺炎を発症した場合に、T1-23を投与した。投与期間は治療状況により担当医師が判断した。具体的には、12名中、2週間、12週間、17週間、18週間投与が各1名

*名であった。なお、8名はCMV抗原陽性白血球が検出されなかったため、投与されなかった。

【0027】A群およびB群の患者について、骨髄移植前1週、骨髄移植日、および骨髄移植後1週ごとに、骨髄移植後15週まで、またはT1-23投与終了まで、血液中のCMV抗原陽性白血球の検出並びにCMV抗体価およびCMV中和価の2種の免疫学的検査を行い、CMV感染症発症の有無を観察した。また、臨床検査を行い、副作用についても調査した。

【0028】骨髄移植施行のみで、T1-23を投与しなかった35名について、別途、同様な方法で、血液中のCMV抗原陽性白血球を検査し、CMV感染症発症の有無を観察し、対照（C群）とした。

【0029】各群のCMV抗原血症陽性例は、A群5例（うち、強陽性4例、移植後6～9週頃に強陽性）、B群4例（うち強陽性4例）、C群においては陽性15例（うち強陽性13例）であった。各群の症例を、CMV抗原陽性白血球数により分類した結果を表1に、CMV感染症発症状況を表2に示す。

【0030】

【表1】

		CMV抗原血症症例数（発症例数）			合計
		強陽性	弱陽性	陰性	
投与群	A 群	4 (1)	1 (0)	7 (0)	12 (1)
	B 群	4 (1)	0 (0)	8 (0)	12 (1)
	計 (A+B)	8 (2)	1 (0)	15 (0)	24 (2)
非投与群	C 群	13 (11)	2 (0)	20 (0)	35 (11)

【0031】表1に示すように、A、B両群でCMV性間質性肺炎と診断された症例は2例であった。いずれも抗CMV抗原血症強陽性症例であった。また、他の感染症の発症は認められなかった。C群における強陽性13例中CMV感染症発症例数は11例で、その内訳は、肺炎7例、肝障害1例、腸炎1例、発熱1例、汎血球減少症1例であった。

【0032】表1にみるとおり、T1-23投与群において観察されたCMV感染症（間質性肺炎）の発症率8.3%（24例中2例）は、文献（柴田弘俊、同種骨髄移植／日本の動向、今日の移植、4 suppl.1, 7-11, 1991）に報告されている骨髄移植後患者における発症率13～22%と比べ、低い発症率であると思われるため、T1-23投与群と非投与群との間で強陽性症例中のCMV感染症発症例数を比較し、表2に示す。

【0033】

【表2】

群		CMV感染症		計
		発症	非発症	
投与群 (A+B群)	例数	2	6	8
	%	25	75	100
非投与群 (C 群)	例数	11	2	13
	%	85	15	100
合計		13	8	21

【0034】表2に示す両群におけるCMV感染症発症例数の χ^2 検定により、投与群ではCMV感染症発症が有意に少ないことが示された（ $\chi^2 = 5.15$ 、 $P = 0.023$ ）。この結果、両群とも強陽性症例出現率はほぼ同じ（投与群24例中8例：33.3%、非投与群35例中13例、37.1%）であるにもかかわらず、強陽性症例でのCMV感染症発症例数は投与群の方が少ないことがわかる。すなわち、T1-23投与により、CMV抗原血症強陽性患者の症状がCMV感染症に進展するのを抑制したことが示される。

【0035】投与群の臨床検査において、肝機能値が投

与中に異常変動を示し、投与継続中にほぼ正常値に回復した症例〔GOT（最高値138）、GPT（最高値690）〕のうち1例（発症率5.3%）のみが、T I-23投与との関係不明との理由で、主治医により副作用と判定された。

【0036】また、T I-23を15週間以上にわたって投与した例においても、その期間中、抗レガビルマブ抗体の出現は観察されなかった。レガビルマブはヒト型モノクローナル抗体であるため長期投与においてもこの抗体に対する抗体の出現による不活性化はおこらず、長期投与が可能であることを示している。

*

*【0037】〔実施例3〕患者の状況が重篤で、治療が必要であるにもかかわらずガンシクロビル単独投与がその副作用（白血球減少、血小板減少、肝機能異常、貧血、腎機能異常等）のため困難であり、または十分な治療効果をあげることができない場合にT I-23を初期投与量200mg/日で3日間、維持投与量120mg/週で投与し、以下の成績をえた。

【0038】全体としての有効性を表3に、疾患別の有効性を表4に示す。

【0039】

【表3】

	有効	無効	判定不能	計
単独例	9 (75.0%)	3	2	14
ガンシクロビルとの併用例	16 (94.1%)	1	2	19
計	25 (86.2%)	4	4	33

【0040】

※ ※【表4】

	有効	無効	判定不能	計
間質性肺炎	10 (90.9%)	1	2	13
網膜炎	9 (81.8%)	2	0	11
他	6 (85.7%)	1	2	9
計	25 (86.2%)	4	4	33

【0041】ここで、他のCMV感染症での有効6例はCMV肝炎、CMV腎炎、先天性CMV感染症各1例、他部位のCMV感染症3例であった。

【0042】さらに、ガンシクロビル無効例に対するT I-23の有効性を調べた。CMV網膜炎についての効果を表5に、BMT後のCMV間質性肺炎についての効果を表6に、他のCMV感染症についての効果を表7に示す。

【0043】

【表5】

投与理由 (投与前)	効果 (投与後)	例数
ガンシクロビル 効果なし	T I-23効果あり	2
	併用効果なし	1
ガンシクロビル 副作用で投与できず	T I-23効果あり	4
	併用効果あり	2
計		9

【0044】

【表6】

(6)

特開平8-59509

9

投薬理由 (投薬前)	効 果 (投薬後)	例 数
ガンシクロビル 効果なし	TI-23効果あり	3
	併用効果あり	7
	投与遅れ判定不能	2
ガンシクロビル 副作用で投与できず	TI-23効果なし	1
計		13

10

【0046】以上のように、TI-23は、緊急避難投与においてCMVI. P.、CMV網膜炎、CMV肝炎、CMV腎炎、ならびに先天性小児CMV感染症等に高い有効性を示し、またガンシクロビル投与ができない患者においても有用である薬剤と考えられた。

10

【0045】

【表7】

投薬理由 (投薬前)	効 果 (投薬後)	例 数
ガンシクロビル 効果なし	併用効果あり	4
	判定不能	1
ガンシクロビル 副作用で投与できず	TI-23効果あり	2
	TI-23効果なし	1
	判定不能	1
計		9

20